

令和 2 年 7 月 2 日現在

機関番号：34401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16585

研究課題名(和文) 直腸癌術後骨盤内局所再発に対する硼素中性子捕捉療法(BNCT)の臨床研究

研究課題名(英文) Boron Neutron Capture Therapy for Pelvic Recurrence of Rectal Cancer

研究代表者

山本 誠士(Masashi, Yamamoto)

大阪医科大学・医学部・講師

研究者番号：50700324

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：female BALB/c nudeマウスに対し、大腸癌細胞株(DLD-1 clone#1-Luc)を骨盤内に注射を行ったところ、安定的な骨盤内再発モデルの樹立が可能であった。腫瘍の生着および発育を実験動物用X線CT(Latheta LCT-200)、発光・蛍光イメージング(IVIS Lumina imaging system)を用いて観察を行ったところ、屠殺することなく経時的な変化を検証可能であった。骨盤内再発マウスモデルの確立自体が世界初の報告であり、今後BNCTの有用性の研究成果についても非常に価値のある報告になると示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

直腸癌骨盤内再発に対する第一選択は、ROを目指した骨盤内臓全摘術が適応となることが多い。しかし侵襲の大きさとQOLの顕著な低下が懸念される。BNCTは硼素化合物を投与されたがん細胞に、熱中性子線を照射することで、硼素と熱中性子が核反応し、がん細胞のみを選択的に破壊する治療であるが、現状では大腸癌に対しては適応外である。今回報告した、大腸癌細胞株による骨盤内再発マウスモデルの確立自体が世界初である。BNCTにて正常細胞への合併症を軽減し、がん細胞だけを選択的に破壊することで他臓器機能を温存し、安全で確かな低侵襲のテーラーメイド治療への進化が期待できるため、非常に価値のある研究成果と考えられた。

研究成果の概要(英文)：We have established an appropriate injection site suitable for the establishment of colorectal cancer pelvic recurrence that allows for the observation of tumor growth. DLD-1 cells stably expressing luciferase (DLD-1 clone#1-Luc) were inoculated into various points of female BALB/c nude mice and the engrafted cells were analyzed with an imaging system employing bioluminescent signals and computed tomography. The imaging system was able to detect the engrafted tumor 7 days after the inoculation of cells. Tumor involvement of adjacent organs was detected histopathologically, as is the case in the clinical situation. These findings suggest that this model is valid for evaluations of the therapeutic effects of novel treatments under development. It is hoped that this model will be used in preclinical research.

研究分野：消化器外科

キーワード：大腸癌 硼素中性子捕捉療法 BNCT

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

硼素中性子捕捉療法(Boron Neutron Capture Therapy : BNCT)とは、1936年にLocherらによって提唱された概念で、硼素化合物を選択的に投与されたがん細胞に、人体には無害である低エネルギーの熱中性子線を照射することで、がん細胞内部で硼素(^{10}B)と熱中性子が核反応し、リチウムとヘリウム(線)を生じさせ、がん細胞のみを選択的に破壊する治療である。これまで脳腫瘍や頭頸部悪性腫瘍の研究結果が蓄積されているが、大腸癌に対しては未だに適応がん腫とされていない。

2. 研究の目的

本邦では大腸癌の罹患率、死亡数が年々増加している。中でも直腸癌術後の局所再発率は10-30%と結腸癌と比べ高い値を維持している。再発巣が骨盤壁および骨盤内臓器に囲まれるため、骨盤内臓全摘術が適応となることが多く侵襲が大きく、術後合併症も高頻度でありQOLの低下も著しい。BNCTを直腸癌術後の局所再発へ応用させることで、他臓器機能が温存され、安全で確かな低侵襲のオーダーメイド治療へと進化させることが期待できる。本研究ではマウス大腸癌転移モデルの作成とがん細胞核内に選択的に集積・移行する特殊加工した大腸癌親和性硼素化合物を開発することである。

3. 研究の方法

大腸癌細胞株(DLD-1, Luc)を用い、硼素薬剤(BPA : p-boronophenylalanine)取り込み評価を行った。硼素濃度の測定はICP発光分光分析装置(ICP-AES, Hitachi)を用いた。マウスモデルは皮下移植モデルを作成し、BPAの体内挙動を観察する。骨盤内再発モデルの作成では、腫瘍の生着および発育観察を実験動物用X線CT(Latheta LCT-200, Hitachi)、発光・蛍光イメージング(IVIS Lumina imaging system, PeKin Elmer)を用いた。

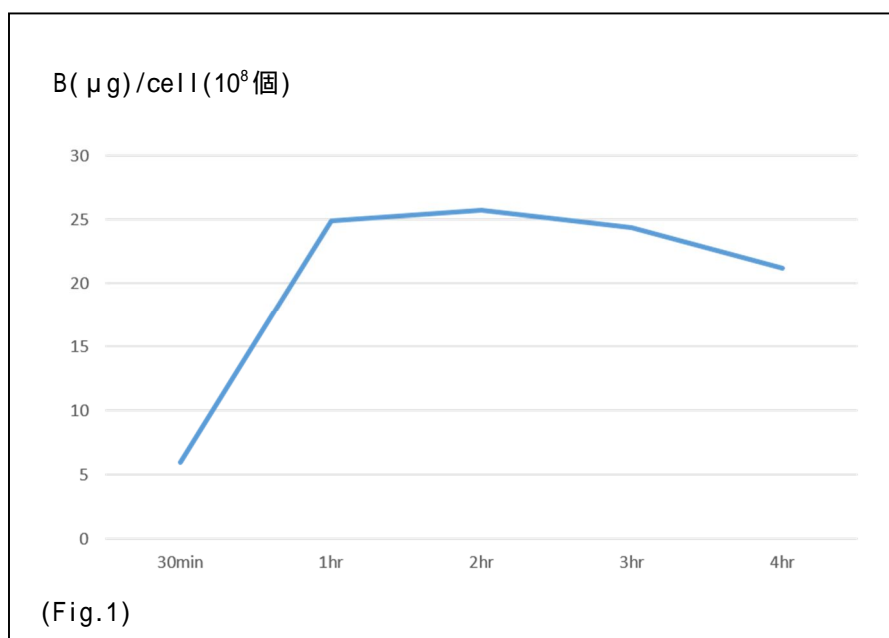
(1)大腸癌細胞株(DLD-1, Luc)をBPAに暴露させ、 ^{10}B の取り込みを経時的にICP発光分光分析装置にて評価した。

(2)6週female BALB/c nude マウスに大腸癌細胞株(DLD-1, Luc)を皮下移植し、生着能および転移能を確認し、各臓器および腫瘍内における硼素濃度の検証を行った。

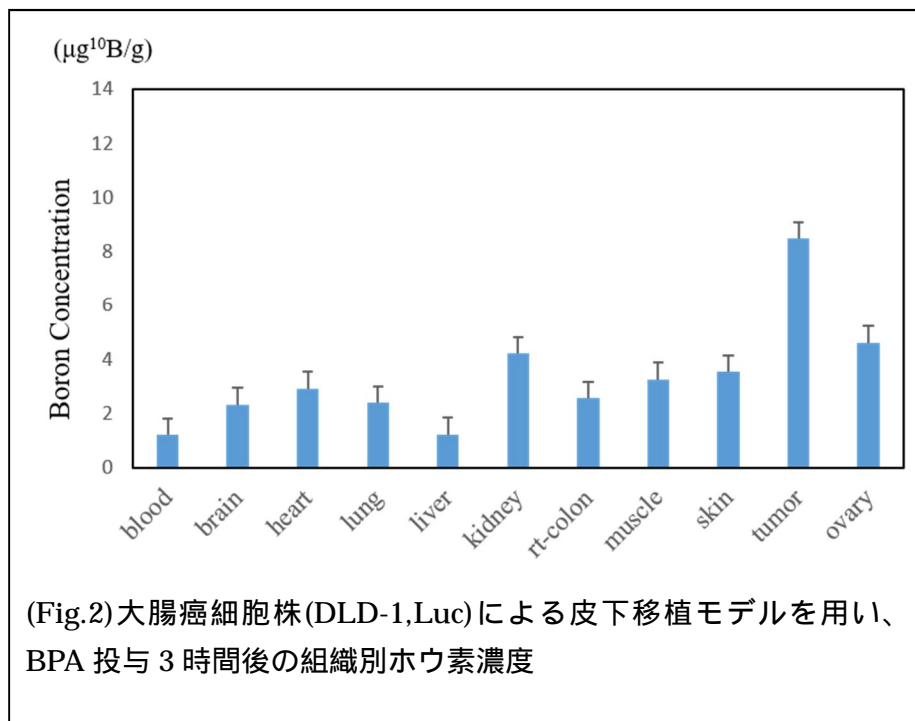
(3)6週female BALB/c nude マウスの骨盤内に大腸癌細胞株(DLD-1, Luc)を注射し、生着能および転移能を確認し、経時的变化の検証を行った。

4. 研究成果

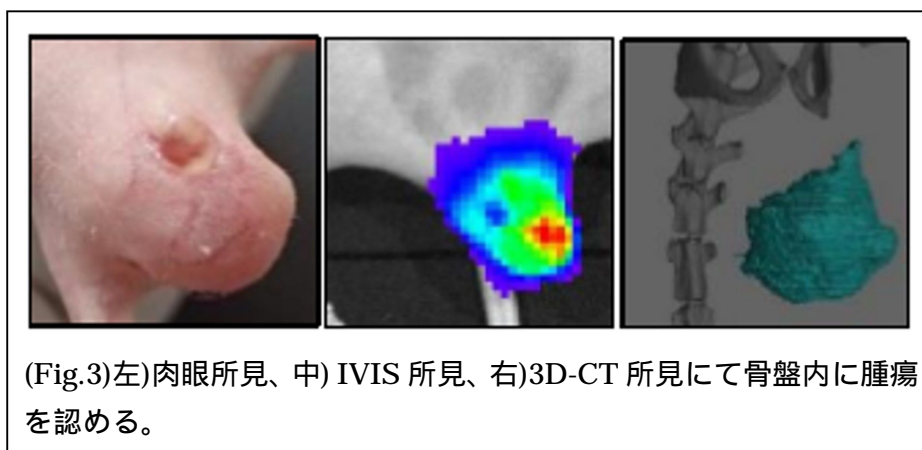
(1)大腸癌細胞株(DLD-1, Luc) 8×10^5 個にBPAに30分、1時間、2時間、3時間、4時間群に分けて暴露させ ^{10}B の取り込みを評価した。BPAは細胞内に1時間かけて急速に取り込まれ、その後は定常状態にあることを確認した(Fig.1)。



(2) 6週 female BALB/c nude マウスに大腸癌細胞株(DLD-1, Luc) $6 \times 10^6/150\mu\text{l}$ を皮下移植し、安定的な生着を確認し、皮下移植モデルを樹立させた。また BPA 投与後 3 時間後の組織別硼素濃度を検証した(Fig.2)。



(3) 6週 female BALB/c nude マウスの骨盤内に大腸癌細胞株(DLD-1, Luc) $6 \times 10^6/150\mu\text{l}$ を注射し、IVIS および Latheta-CT 所見にて安定的に生着を確認した。屠殺することなく経時的な変化を検証可能な骨盤内再発モデルを樹立させた(Fig.3、引用文献)。



BNCT は古くから脳腫瘍を中心とする治療の有用性が報告されてきたが、これまで大腸癌に対する報告はほとんどないのが現状である。骨盤内再発マウスモデルの確立自体が世界初の報告であり、今後 BNCT の有用性の研究成果についても非常に価値のある報告になると示唆された。

<引用文献>

Masashi Yamamoto, Kohei Taniguchi, Shinsuke Masubuchi, Tomo Tominaga, Yosuke Inomata, Akiko Miyamoto, Taka-Aki Ishizuka, Takashi Murakami, Wataru Osumi, Hiroki Hamamoto, Keitaro Tanaka, Junji Okuda, Kazuhisa Uchiyama. An in vivo mouse model of pelvic recurrence of human colorectal cancer. Sci Rep, 査読有, 2019, 23;9(1):19630. Doi: 10.1038/s41598-019-56152-0.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Masashi Yamamoto, Kohei Taniguchi, Shinsuke Masubuchi, Tomo Tominaga, Yosuke Inomata, Akiko Miyamoto, Taka-Aki Ishizuka, Takashi Murakami, Wataru Osumi, Hiroki Hamamoto, Keitaro Tanaka, Junji Okuda, Kazuhisa Uchiyama.	4. 巻 23;9(1)
2. 論文標題 An in vivo mouse model of pelvic recurrence of human colorectal cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 19630
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-56152-0.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Kohei Taniguchi, Masashi Yamamoto, Shinsuke Masubuchi, Tomo Tominaga, Yosuke Inomata, Wataru Osumi, Hiroki Hamamoto, Keitaro Tanaka, Junji Okuda, Kazuhisa Uchiyama
2. 発表標題 An In Vivo Mouse Model of Pelvic Recurrence of Human Colorectal Cancer
3. 学会等名 第57回 日本癌治療学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----